Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 727-743

Effect of the Foliar Application of Copper Nanoparticles on the Growth and Yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under Salinity Stress

F. Shakarami[1], S. Mousavi-Fard[2*], A. Rezaei Nejad[3], F. Beiranvand[4]

1, 3 and 4- M.Sc. Student, Professor and Ph.D., Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, respectively
(*- Corresponding Author Email: Mousavifard.S@sku.ac.ir)
2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 28-01-2024 Revised: 12-07-2024 Accepted: 17-07-2024 Available Online: 17-07-2024	**How to cite this article:** Shakarami, F., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., & Beiranvand, F. (2024). Effect of the foliar application of copper nanoparticles on the growth and yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under salinity stress. *Journal of Horticultural Science, 38*(4), 727-743. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86565.1323

Introduction

Salinity in water and soil stands as a crucial environmental factor that significantly hampers global agricultural production. Over recent decades, the escalating demand for irrigation in arid and semi-arid regions has intensified this issue, making it a major agricultural challenge. Salinity stress, characterized by reduced water absorption, heightened salt uptake (especially sodium, chlorine, and boron), and the generation of reactive oxygen species, induces oxidative stress in plants, severely impacting their growth and overall performance. To enhance plant tolerance to salinity stress, elicitors are employed as a short-term and viable solution to mitigate the adverse effects of stress. Copper, serving as a cofactor and essential element for numerous enzymes involved in photosynthesis and respiration processes, plays a crucial role in sustaining natural plant growth and metabolism. Copper ions function as cofactors in enzymes like superoxide dismutase (Cu/Zn SOD) and polyphenol oxidase, contributing to the removal of reactive oxygen species. However, the absence of this element in plants cultivated in alkaline and saline soils of arid and semi-arid regions can lead to nutritional disorders. In this context, copper nanoparticles emerge as a suitable alternative to chemical fertilizers due to their rapid and efficient effects. Their use not only mitigates the negative consequences of excessive fertilizer application but also decreases the frequency of applications. The Persian leek (*Allium ampeloprasum* subsp. Persicum) is a valuable edible-medicinal plant native to Iran, belonging to the Amaryllidaceae family. It holds significance in Iran as a key leafy vegetable, valued for its freshness and high processing potential among horticultural plants. Given the nutritional and medicinal importance of Persian leek and the prevalence of salinity stress, this study aims to explore the impact of copper nanoparticle spray in modifying the effects of salinity stress on the morphophysiological and biochemical characteristics of Persian leek.

Materials and Methods

A factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications in the research greenhouses of Lorestan University's Faculty of Agriculture. The experimental conditions included daytime temperatures ranging from 20 to 28 °C, nighttime temperatures from 15 to 20 °C, relative humidity set at 60-70%, and a light intensity of 400-500 µmol.m^{-2}.s^{-1}. The first factor involved foliar spraying of copper nanoparticles at control levels (zero), 150, and 300 mg.l^{-1}, while the second factor comprised salinity stress at control levels (zero), 50, 100, and 150 mM sodium chloride. F1 seeds were obtained from Pakan Bazr Company and planted in 1.5-liter pots, with

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86565.1323

each pot containing three plants. The copper nanoparticles were applied through foliar spraying twice on the shoot parts at the four-leaf and six-leaf stages. Salinity stress was introduced one week after the foliar application, implemented through irrigation once every three days at a level corresponding to 90% of the field capacity. The soil mixture comprised an equal ratio of agricultural soil, cow manure, and sand, maintaining a clay-sand loam texture. Following three months of applying salt stress, a comprehensive assessment of morphophysiological characteristics was carried out. This included the measurement of plant height, stem and bulb diameter, leaf count, fresh and dry weights of stem, root leaf, root volume and length, shoot/root ratio, dry matter (%), stress tolerance index, relative water content (RWC), electrolyte leakage, malondialdehyde content, photosynthetic pigments, chlorophyll stability index, as well as the activity of peroxidase and ascorbate peroxidase.

Results and Discussion

The results indicated that salinity stress had a detrimental impact on various aspects of plant growth, including a decrease in plant height, stem and bulb diameter, leaf number, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root. Additionally, there was a reduction in root volume and length, along with decreased levels of photosynthetic pigments. The percentage of electrolyte leakage, malondialdehyde content, and the activity of antioxidant enzymes, namely peroxidase and ascorbate peroxidase, also increased, highlighting the adverse effects of salinity stress on plant development. The decline in plant growth can be attributed to multiple factors, including diminished cell division, ionic imbalance, reduced water absorption, impaired uptake of essential elements, and the impact of toxic ions, particularly sodium and chlorine. Other contributing factors include impaired absorption, regeneration, and metabolism of nitrogen and protein, as well as stomatal closure, collectively resulting in reduced photosynthetic efficiency. Salinity stress further leads to a reduction in soil water potential and an increase in the osmotic pressure of the soil solution. Consequently, the plant requires more energy to absorb water from the soil, leading to increased respiration and alterations in the hormonal balance of plant tissues, ultimately causing a decrease in growth and negative effects on the plant. The application of copper nanoparticles at both concentrations demonstrated positive effects on various growth components, including plant height, stem and bulb diameter, leaf count, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root, as well as increased root volume and length. Additionally, the use of copper nanoparticles resulted in a decrease in the percentage of electrolyte leakage and malondialdehyde content, coupled with an increase in the concentration of photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes, including peroxidase and ascorbate peroxidase. Notably, the concentration of 150 $mg.liter^{-1}$ exhibited a more pronounced effect in enhancing plant growth, with a diminishing impact observed at higher concentrations. Copper \nanoparticles improve plant growth under stress conditions by influencing the content of cellular antioxidants and modulating the hormonal balance of plant tissues.

Conclusion

The findings of this study indicated that increased salinity stress led to higher electrolyte leakage and malondialdehyde content, along with a reduction in RWC and photosynthetic pigments. These changes caused a decline in the morpho-physiological characteristics of Persian leek. However, salinity stress also increased the activity of peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes. Foliar application of copper nanoparticles under these conditions had beneficial effects on the plants. Specifically, at a concentration of 150 $mg.liter^{-1}$, the negative effects of salinity stress on the morpho-physiological indices of Persian leek were alleviated. This improvement was due to an increase in the activity of antioxidant enzymes, RWC, and the concentration of photosynthetic pigments.

Keywords: Electrolyte leakage, Malondialdehyde, Peroxidase enzyme, Relative water content

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۴۳-۷۲۷

بررسی رشد و عملکرد تره ایرانی (*Allium ampeloperasum* subsp. Persicum) در پاسخ به محلول‌پاشی نانوذرات مس تحت تنش شوری

فرهاد شاکرمی[1]- صادق موسوی فرد[2]*- عبدالحسین رضایی نژاد[3]- فرهاد بیرانوند[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۷

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات مس بر ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاه تره ایرانی (*Allium ampeloperasum* subsp. Persicum) تحت شرایط تنش شوری بود. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی نانوذرات مس در سه سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و فاکتور دوم شامل تنش شوری در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که به‌صورت آبیاری سه روز یک‌بار (در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که افزایش تنش شوری موجب کاهش معنی‌داری در ارتفاع بوته، قطر ساقه و پیاز، تعداد برگ، حجم ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، پیاز و ریشه، شاخص مقاومت به تنش، محتوای کلروفیل a، b و کل، کارتنوئید، شاخص ثبات کلروفیل و محتوای نسبی آب شد و از سوی دیگر، باعث افزایش قابل توجهی در طول ریشه، درصد ماده خشک، نشت الکترولیت، میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه تره ایرانی شد. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی نانوذرات مس اثرات تنش شوری را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود تعادل آبی تعدیل کرد. استفاده از هر دو غلظت نانوذرات مس باعث افزایش معنی‌داری در تمامی ویژگی‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد شد. به‌طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش شوری در همه سطوح دارای اثرات منفی بر رشد و عملکرد در تره ایرانی می‌باشد، درصورتی‌که کاربرد نانوذرات مس به‌ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش شاخص ثبات کلروفیل، بهبود روابط آبی گیاه و همچنین افزایش شاخص مقاومت گیاه به تنش منجر به افزایش قطر پیاز، وزن تر و خشک اندام هوایی و پیاز شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید، محتوی نسبی آب، نشت الکترولیت

مقدمه

شوری آب‌های آبیاری و خاک، یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است و در طول دهه‌های گذشته به‌دلیل افزایش نیاز آبیاری در مناطق خشک و نیمه‌خشک، یکی از مشکلات عمده کشاورزی شده است (Abdelraheem *et al*., 2019; Gholamzadeh Alam *et al*., 2022). تحت شرایط تنش شوری، هدایت روزنه‌ای، تعرق و دسترسی به دی‌اکسید کربن کاهش می‌یابد و روند فتوسنتز تغییر می‌کند. در نتیجه، تنش اکسیداتیو با افزایش تولید و حضور گونه‌های فعال اکسیژن و یا گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر ایجاد می‌شود (Safari *et al*., 2022). شوری باعث کمبود یا عدم تعادل مواد غذایی معدنی در گیاه می‌شود. این تأثیر می‌تواند به‌دلیل رقابت یون‌های Na^+ و Cl^- با مواد مغذی مانند پتاسیم (K^+)، کلسیم (Ca^+) فسفر (P)، منیزیم (Mg) و نیترات (NO_3^-) باشد (Della Maggiora *et al*., 2023; Safari *et al*., 2022).

۱، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Mousavifard.S@sku.ac.ir)
۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86565.1323

متابولیسم گیاه توسط عناصر درشت و ریزمغذی تنظیم می‌شود که ریزمغذی‌ها به‌طور عمده در حفاظت سلول، تنظیم بیان ژن‌ها، انتقال پیام و همچنین در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و فرآیندهای آنزیمی نقش عمده‌ای دارند. در میان ریز مغذی‌ها، مس (Cu) یک کوفاکتور و عنصر کلیدی برای بسیاری از آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای فتوسنتز و تنفسی است و به‌عنوان کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز شرکت دارد (Thounaojam *et al*., 2012) و از طریق برخی آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، در نتیجه کمبود این عنصر در گیاهان روئیده در خاک‌های قلیایی و شور مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌تواند منجر به نوعی اختلال تغذیه‌ای شود (Thounaojam *et al*., 2012).

امروزه نانوفناوری، یک علم جدید و شاخه‌ای جذاب است که اجازه پیشرفت به تحقیقات در بسیاری از زمینه‌ها را می‌دهد. نانوتکنولوژی شامل دامنه‌ای از تکنولوژی‌های مربوط به دستکاری مواد در مقیاس طولی ۱۰۰-۱ نانومتر است (Pérez-Labrada *et al*., 2019). در این بین، نانوذرات مس می‌توانند به‌دلیل فعل و انفعال با ساختارهای داخل سلولی و سهولت نفوذ در دیواره سلولی به‌دلیل آندوسیتوز، شکل منافذ، پروتئین‌های انتقال‌دهنده یا پلاسموداسماها باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شوند (Pérez-Labrada *et al*., 2019). از طرف دیگر، کودهای شیمیایی، نقش اساسی در جبران کمبود عناصر کم‌مصرف در گیاه ایفا می‌کنند، امّا به‌واسطه فتولیز (تجزیه آب)، هیدرولیز و فعالیت‌های میکروبی، بخش زیادی از آن از دسترس گیاه خارج می‌شود. در نتیجه، برای کنترل مؤثر و تأمین کمبود عناصر، تکرار کوددهی ضروری بوده که این خود منجر به اثرات ناخواسته‌ای همچون آلودگی آب و خاک و در نتیجه، شوری بیشتر خاک می‌گردد. ازاین‌رو به‌کارگیری نانوذرات به‌عنوان جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی (برای به حداقل رسیدن اثرات منفی مصرف بیش از حد آن‌ها و کاهش تعداد دفعات کاربردشان) می‌تولند یکی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم‌مصرف و افزایش جذب این عناصر باشد (Siddiqi *et al*., 2020).

تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. Persicum) یکی از گونه‌های مهم خانواده Alliaceae است که به‌عنوان یک گیاه بومی ایرانی و یکی از سبزی‌های برگی مهم در ایران شناخته می‌شود. گیاهی دو ساله، چندچین دارای برگ‌های با عرض ۴-۱ سانتی‌متر و به‌طول ۳۰-۲۰ سانتی‌متر است. پس از هر بار برداشت، برگ‌های جدید عریض‌تر و طویل‌تر شده و در قاعده همدیگر را می‌پوشانند (Panahandeh, 2015). تولید سبزی‌ها به لحاظ اهمیت تازه‌خوری و فرآوری زیاد آن‌ها در بین گیاهان باغبانی از اهمیت بسیاری برخوردار است (Panahandeh, 2015). مطالعات نشان داده است که یکی از راهکارهای بهبود تحمل به تنش شوری در گیاهان باغبانی، محلول‌پاشی مواد تعدیل‌دهنده تنش می‌باشد. در این خصوص، طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی و هورمون‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (Safari *et al*., 2022; Roozbahani *et al*., 2020). با توجه به اینکه تره ایرانی به‌عنوان یک سبزی بومی و پرمصرف، اهمیت تغذیه‌ای و دارویی زیادی دارد، از طرفی تنش شوری در حال گسترش می‌باشد. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات مس بر تعدیل اثر تنش شوری بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی تره ایرانی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی لرستان با دمای روزانه ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد و شبانه ۲۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۵۰۰-۴۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه با دوره روشنایی ۱۶ ساعت و هشت ساعت تاریکی در بهار و تابستان ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی نانوذرات مس (سطوح صفر؛ شاهد، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و فاکتور دوم شامل تنش شوری (سطوح صفر؛ شاهد، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. بذرهای واریته تره شادگانی از شرکت پاکان بذر تهیه و در نیمه اول خرداد ماده در گلدان‌هایی با حجم ۱/۵ لیتری کشت شدند (هر گلدان حاوی سه گیاه). نانوذرات مس در مرحله چهاربرگی و شش‌برگی دوبار با فاصله حدود ۱۰ روز روی سطح رویی و زیرین برگ گیاهان محلول‌پاشی شد. یک هفته بعد از محلول‌پاشی، تنش شوری کلرید سدیم به‌صورت آبیاری سه روز یک‌بار در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به‌میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر اعمال شد. به‌منظور جلوگیری از اثر تجمعی نمک، بعد از پنج مرتبه آبیاری گلدان‌ها با سطح شوری مورد نظر، آب‌شویی گلدان‌ها با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب لوله انجام شد تا نمک اضافی از محیط ریشه خارج شود. نانوذرات مس با جرم مولکولی ۶۳/۵۴ از شرکت نانومواد ایرانیان تهیه شد. بستر کاشت شامل نسبت مساوی ۱:۱:۱ خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه (با بافت لومی رسی- شنی (۷۱/۷۱ درصد شن، ۴/۰۸ سیلت و ۲۴/۲ درصد رس) بود. تنش شوری به‌مدت سه ماه ادامه داشت و در نیمه اول مهرماه آزمایش پایان یافت، سپس شاخص‌های زیر اندازه‌گیری شد.

ویژگی‌های ریخت‌شناسی شامل ارتفاع گیاه (به‌وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر از ناحیه یقه محاسبه شد)، قطر ساقه و طوقه (با استفاده از دستگاه کولیس بر حسب میلی‌متر)، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول ریشه (به‌وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر)، حجم ریشه (از طریق اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار

گرفتن ریشه در حجم مشخصی از آب براساس قانون ارشمیدوس بر حسب سانتی‌متر مکعب، محاسبه شد)، وزن تر و خشک ریشه، نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی، درصد ماده خشک (Starman & Lombardini, 2006) و شاخص مقاومت به تنش خشکی (معادله ۱) (Fischer & Maurer, 1978) نیز طبق معادله زیر اندازه‌گیری شد:

(۱)

$$STI\ (Stress\ tolerance\ index)(\%) = \frac{Total\ dry\ weight\ (g)}{Control\ dry\ weight\ (g)} \times 100$$

ویژگی‌های فیزیولوژیکی: محتوای نسبی آب برگ گیاه به‌روش ریچی و نگوین (Ritchie & Nguyen, 1990)، اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر (FW)، نمونه‌های برگ به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شد. پس از آن، وزن تورژسانس (TW) آن اندازه‌گیری گردید. جهت اندازه‌گیری وزن خشک (DW) به‌مدت ۴۸ ساعت نمونه‌ها در داخل آون و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت، محتوای نسبی آب برگ (RWC) بر حسب درصد از معادله ۲ محاسبه شد.

$$RWC\ (\%) = (FW- DW/\ TW- DW)\times 100 \quad (۲)$$

برای تعیین نفوذپذیری غشاء سلولی، براساس روش لوتس و همکاران (Lutts *et al*., 1996)، از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته، نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برگی در ابعاد یک سانتی‌متری بریده و سپس با آب مقطر شسته شد. پس از آن به‌مدت دو ساعت در دمای اتاق و در داخل لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. هدایت الکتریکی اولیه (E1) با دستگاه EC متر قرائت شد. نمونه‌ها در اتوکلاو و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی ثانویه (E2) قرائت شد. در نهایت، درصد نشت الکترونیک برگ از معادله ۳ محاسبه شد

$$EL\ (\%) = (E1/E2)\times 100 \quad (۳)$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌ها، به‌روش لیختن هالر (Lichtenthaler, 1987)، انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم از برگ توزین شد. برگ در هاون چینی با ازت مایع خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط شد. عصاره به‌دست آمده در فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر، جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. استون به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده شد. در نهایت، غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از معادلات زیر محاسبه و براساس میلی‌گرم در گرم محاسبه شد.

$$Chl\ a\ (mg.g^{-1}) = (11.24 \times A_{662}) - (2.04 \times A_{645}) \quad (۴)$$

$$Chl\ b\ (mg.g^{-1}) = (20.13 \times A_{645}) - (4.19 \times A_{662}) \quad (۵)$$

(۶)

$$Total\ Chl\ (mg.g^{-1}) = 7.05 \times (A_{662}) + 18.09 \times (A_{645})$$

(۷)

$$Car = 1000 \times (A_{470} - 1.90\times Chl\ a - 63.14 \times Chl\ b) / 214$$

شاخص ثبات کلروفیل نیز از معادله ۸ به‌دست آمد (Vinaya Rai & Parthiban, 1995).

(۸)

$$Chlorophyll\ Stability\ Index\ (CSI)(\%) = \frac{Total\ chlorophyll\ contents\ (stressed)}{Total\ chlorophyll\ contents\ (control)} \times 100$$

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید با استفاده از تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان معرف و براساس روش وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2009) انجام شد. بدین منظور، یک دهم گرم از بافت تازه گیاه (برگ) با استفاده از نیتروژن مایع درون هاون چینی خرد شد، سپس پنج میلی‌لیتر از محلول نیم درصد تیوباربیتوریک اسید (حل شده در تری‌کلرو استیک اسید) به آن اضافه و در فالکون ریخته شد. به‌منظور انجام واکنش، فالکون‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، پس از این مدت، بلافاصله با استفاده از یخ سرد شدند. مخلوط در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب روشناور در سه طول موج ۴۵۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (SHIMADZU, model UV-1700, Japan)، قرائت شد و سپس میزان مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

(۹)

$$MDA = 6.45(OD_{532}-OD_{600}) - 0.56(OD_{450})$$

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (MacAdam *et al*., 1992) استفاده شد. میزان فعالیت بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد. در ابتدا، سه دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار) هموژن شد. محلول حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر (۵۰ میلی‌مولار) و ۵۰ میکرولیتر آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر گایاکول با ۵۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۴۷۵ نانومتر به‌مدت ۱۳۰ ثانیه با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز طبق روش ناکانو و آسادا (Nakano & Asada, 1981) اندازه‌گیری شد. یک دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (۵۰ میلی‌مولار) حاوی EDTA (دو میلی‌مولار) و PVP (یک درصد) هموژن شد. محلول حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بدون اسید آسکوربیک و ۳۰۰ میکرو لیتر بافر (۵۰ میلی‌مولار) محتوی اسید

آسکوربیک و سه میکرولیتر آب اکسیژنه با۵۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab V20 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع بوته تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین دادها نشان داد که تنش شوری اثر منفی بر رشد گیاه داشت، به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته در شاهد (۵۸/۷۳ سانتی‌متر) و کمترین مقدار آن در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار (۲۴/۷ درصد کاهش در مقایسه با شاهد) به‌دست آمد (جدول ۴). همچنین محلول‌پاشی نانوذرات مس موجب افزایش ارتفاع بوته گردید و بیشترین ارتفاع بوته در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۴/۳۲ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) مشاهده شد (جدول ۵).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر ساقه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، قطر ساقه کاهش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۴۱/۹۱ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. امّا محلول‌پاشی نانوذرات در دو سطح شوری ۵۰ و۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش قطر ساقه شد. در کل، بیشترین قطر ساقه در شاهد (بدون شوری و نانوذرات) (۷/۷۳ میلی‌متر) و کمترین آن نیز در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات مس (۴/۴۹ میلی‌متر) به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر پیاز تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری از قطر پیاز کاسته شد، به‌طوری‌که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کاهش ۳۲/۴۷ در مقایسه با شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون تنش باعث کاهش قطر پیاز شد، امّا در سطوح تنش شوری به‌خصوص در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش قطر پیاز شد. در کل، بیشترین (۱۲/۸۴ میلی‌متر) و کمترین (۸/۶۷ میلی‌متر) قطر پیاز به‌ترتیب در شاهد (صفر میلی‌مولار کلرید سدیم و عدم محلول‌پاشی نانوذرات مس) و تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات مس ثبت شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر نانوذرات مس و اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوری از تعداد تعداد برگ کاسته شد، هر چند اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌مولار) مشاهده نشد و بیشترین تعداد برگ نیز در شاهد (۶/۲۲ در بوته) به‌دست آمد (جدول ۴).

نتایج پژوهش اکبری و همکاران (Akbari *et al*., 2011) نشان داد که با افزایش غلظت شوری ناشی از کلرید سدیم، از ارتفاع گیاه و تعداد برگ گیاه تره ایرانی کاسته شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. جلوگیری از رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب (افزایش تنش اسمزی)، اختلال در جذب عناصر، تأثیر یون‌های سمی به‌ویژه سدیم و کلر، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارآیی فتوسنتز باشد (Raza *et al*., 2022). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام‌ها، فتوسنتز و تولید پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد و با افزایش غلظت املاح، فشار اسمزی محلول خاک زیاد شده، در نتیجه مقدار انرژی که گیاه باید صرف جذب آب از خاک کند، افزایش می‌یابد که این خود باعث افزایش تنفس و کاهش ارتفاع و عملکرد گیاه می‌شود (Raza *et al*., 2022). از طرفی دیگر، کاهش سطح برگ نیز در شرایط تنش شوری در نتیجه کاهش اندازه و تعداد سلول‌ها اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش سطوح تعرق‌کننده شده و بنابراین در حفظ تعادل آبی گیاه نقش به‌سزایی دارد (Osakabe *et al*., 2014). در سطوح شوری بالا، برگ‌ها کوچک‌تر و ضخیم‌تر می‌شوند که این تغییرات ناشی از محدود شدن گسترش سلولی به‌دلیل کاهش فشار آماس و تنش ثانویه اسمزی است (Jampeetonga & Brix, 2009; Croser *et al*., 2001). همچنین کاهش سطح برگ در اعمال شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش مواد فتوسنتزی جهت رشد و توسعه سلول‌های برگ باشد (Betran *et al*., 2003).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر نانوذرات مس بر صفات رشدی تره ایرانی تحت تنش شوری

Table 1- ANOVA for the effect of copper nanoparticles on growth characteristics of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares														
		ارتفاع گیاه Plant height	تعداد برگ Number of leaves	قطر ساقه Stem diameter	قطر پیاز Bulb diameter	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن تر پیاز Bulb fresh weight	وزن خشک پیاز Bulb dry weight	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	نسبت اندام هوایی به زیرزمینی Shoot/root ratio	درصد وزن خشک percentage of dry matter	شاخص مقاومت به تنش STI[1]
شوری Salinity	3	357.3**	7.1**	5.620**	10.22**	4332.7**	20.88**	25.1**	0.529**	2.642**	4567.1**	3967.1**	31.92**	0.0473**	36.09**	4019.5**
نانوذرات مس NP-Cu	2	136.9**	0.33^{ns}	0.420**	1.629**	75.4**	0.393**	0.65^{ns}	0.164**	1.941*	60.86**	69.90**	1.47**	0.00008^{ns}	0.56^{ns}	167.2**
شوری × نانوذرات مس Salinity× NP-Cu	6	2.88^{ns}	0.33^{ns}	1.41**	1.63**	33.6**	0.215*	0.782*	0.082*	2.621**	4.75^{ns}	4.97^{ns}	0.76**	0.00111^{ns}	0.54^{ns}	79.55**
خطای آزمایشی Error	22	1.71	0.212	0.057	0.018	1.08	0.060	0.294	0.023	0.363	2.81	4.21	0.09	0.0012	0.43	3.95
ضریب تغییرات C.V (%)		2.58	10.71	3.99	1.28	2.57	6.99	4.76	6.21	2.93	3.45	4.31	5.57	8.35	5.55	3.00

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non- significant and significant at the 5% and 1% of probability level , respectively.

[1]: Stress Tolerance Index

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر نانوذرات مس بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تره ایرانی تحت تأثیر تنش شوری

Table 2- ANOVA for the effect of copper nanoparticles on the physiological and biochemical indices of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares									
		محتوای نسبی آب Relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	مالون دی‌آلدئید Malondi aldehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	شاخص ثبات کلروفیل CSI	پراکس یداز Peroxi dase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
شوری Salinity	3	76.65**	299.33**	0.0152**	3.817**	1.304**	0.640**	9.421**	2697.3**	9.421**	0.0055**
نانوذرات مس NP-Cu	2	7.68*	70.27**	0.0010**	4.659**	0.363**	0.583**	7.618**	2181.3**	7.618**	0.0154**
شوری × نانوذرات مس Salinity× NP-Cu	6	8.67**	7.83ns	0.0001ns	0.035ns	0.026ns	0.016ns	0.057ns	16.4ns	0.057ns	0.0003*
خطای آزمایشی Error	22	2.02	2.13	0.0001	0.123	0.020	0.024	0.163	46.94	0.163	0.0001
ضریب تغییرات C.V (%)		1.59	5.33	12.45	9.35	10.37	11.72	7.92	7.92	7.47	5.17

CSI: Chlorophyll stability index

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non- significant and significant at the 5% and 1% of probability level , respectively.

جدول ۳- تأثیر نانوذرات مس بر صفات رشدی گیاه تره ایرانی تحت تأثیر تنش شوری

Table 3- The effect of copper nanoparticles on the growth characteristics of Persian leek under salinity stress

شوری) Salinity (mM)	نانوذرات مس NP-Cu ($mg.l^{-1}$)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	قطر پیاز Onion diameter (mm)	وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry weight (g)	وزن تر پیاز Fresh weight of onion (g)	وزن خشک پیاز Dry weight of onion (g)	طول ریشه Root length (cm)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	شاخص مقاومت به تنش STI (%)	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase ($\mu mol.min^{-1}.g^{-1}$ FW)
0	0	7.73a	12.84a	74.66a	5.804a	13.80a	2.912a	20.07ef	8.466a	100a	90a	0.1514g
	150	6.28bc	10.82e	72.51b	5.384b	12.84b	2.707ab	21.43bcd	7.977a	94b	87bcd	0.2036e
	300	6.40b	11.81b	68.68c	5.476ab	12.57bc	2.539bc	20.53def	7.428b	90c	88bc	0.2193de
50	0	5.13ef	10.74e	39.02f	3.107d	11.59d	2.398cde	20.53def	4.973e	61f	85def	0.1770f
	150	5.87d	11.09cd	45.36d	3.753c	12.29bcd	2.598bc	19.60f	6.429c	74d	89ab	0.2082e
	300	5.95cd	11.26c	43.33e	3.443cd	11.81cd	2.447cd	20.40ef	5.907d	69e	87cd	0.2621b
100	0	6.38b	9.51h	24.44h	2.126g	9.55ef	2.082fg	22.47a	3.963f	48h	84efg	0.1843f
	150	5.29e	10.39f	32.62g	2.638e	10.26e	2.398cde	20.27ef	4.944e	58f	86cde	0.2139e
	300	5.06ef	10.95de	33.38g	2.421ef	10.03e	2.227def	21.70bc	4.705e	54g	83fg	0.2345cd
150	0	4.50g	8.67j	17.69j	1.980g	8.98f	1.957g	22.07ab	3.148g	41i	81h	0.2167e
	150	4.82fg	9.17i	25.24h	2.660e	10.11e	2.470bcd	20.97cde	3.989f	53g	83fg	0.2445c
	300	5.38e	10.13g	22.55i	2.131fg	9.45ef	2.163efg	19.80f	3.663f	46h	82gh	0.2924a

STI: Stress Tolerance Index

حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد را نشان می‌دهند.

In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۴- تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه تره ایرانی

Table 4- Theeffect of salinity stress on the morphophysiological characteristics of Persian leek

شوری Salinity (mM)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	تعداد برگ Nnumber of leaves	حجم ریشه Root volume (cm^3)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی	درصد ماده خشک percentage of dry matter	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)	کارتنوئید Carotenoid ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll ($mg.g^{-1}$ FW)	شاخص ثبات کلروفیل CSI (%)	پراکسیداز Peroxidase ($\mu mol.min^{-1}.g^{-1}$ FW)
0	58.7a*	6.22a	73.44a	68.06a	0.522a	10.60c	22c	0.0374d	4.704a	1.885a	1.715a	6.589a	111a	3.576c
50	51.5b	4.56b	56.2b	62.81b	0.417b	9.95d	22c	0.0671c	3.468b	1.302b	1.270b	4.770b	81b	4.226b
100	47.2c	4.67b	36.11c	35.78c	0.353c	12.1b	26b	0.0896b	3.454b	1.257b	1.214bc	4.711b	80b	4.213b
150	44.2d	4.22b	22.1d	24.520d	0.389b	14.46a	34a	0.1350a	3.306b	0.979c	1.110c	4.286c	73c	5.026a

CSI: Chlorophyll stability index

حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهند.

In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۵- تأثیر نانوذرات مس بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه تره ایرانی

Table 5- The effect of copper nanoparticles on the morphophysiological characteristics of Persian leek

نانوذرات مس NP-Cu (mg.l^{-1})	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	حجم ریشه Root volume (cm^3)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g^{-1} FW)	کارتنوئید Carotenoid (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g^{-1} FW)	شاخص ثبات کلروفیل CSI (%)	پراکسیداز Peroxidase (µmol.min^{-1} g^{-1} FW)
0	46.83a*	49.17a	50.269a	28a	0.0927a	3.207c	1.201c	1.107c	4.408c	75c	3.423c
150	50.81b	44.67b	45.448b	23c	0.0746b	4.421a	1.544a	1.549a	5.965a	101a	4.998a
300	53.54c	47.08c	47.662c	26b	0.0795b	3.571b	1.323b	1.326b	4.894b	83b	4.360b

CSI: Chlorophyll stability index

* حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهند.

* In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

نتایج پژوهش روی گیاه گوجه فرنگی (Pérez-Labrada *et al.*, 2019; Hernandez-Hernandez *et al.*, 2018) نشان داده است که کاربرد نانوذرات مس باعث افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه و تعداد برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تعدیل گیاه و پاسخ به سازگاری تنش خشکی و شوری دارد. اکسین در تنظیم شوری گیاهان و واکنش تطبیقی تنش خشکی بسیار مهم است و به‌عنوان یک پیام‌رسان شیمیایی، بیان ژن را از طریق خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی (فاکتورهای پاسخ اکسین (ARFs) متصل‌شونده به DNA) متمایز از نظر عملکردی، تحت تأثیر قرار می‌دهد. از طرفی، فاکتورهای پاسخ اکسین (ARFs) نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های اکسین دارند و چندین فرآیند بیولوژیکی مانند قطبیت اندام، گسترش برگ، پیری، رشد ریشه، رشد گل و رشد میوه را تنظیم می‌کند. بنابراین عنصر مس با تنظیم و تعدیل اکسین بر رشدونمو گیاه تأثیر می‌گذارد (Raza *et al.*, 2022). همچنین مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و در نتیجه با تولید اسید آمینه تریپتوفان و تولید اکسین باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2018).

اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک اندام هوایی تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب در وزن تر و خشک لندام هوایی کاهش ۷۶/۳۰ و ۶۶ درصد مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون شوری کلرید سدیم کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی را نشان داد، امّا هر سه سطح شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) موجب افزایش وزن خشک لندام هوایی شد. در بین غلظت‌های استفاده شده نیز غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز تأثیر بیشتری در افزایش شاخص‌های فوق داشت. به‌طور کلی، شاهد بیشترین وزن تر (۷۴/۶۶ گرم) و خشک (۵/۸ گرم) اندام هوایی را نشان داد. تیمار تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین وزن تر (۱۷/۶۹ گرم) و خشک (۱/۹۷ گرم) اندام هوایی را داشت (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر وزن تر و خشک پیاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی با اعمال تنش شوری کاهش نشان داد، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب کاهش ۳۵ و ۳۲/۹۸ درصدی در وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس نیز در سطح بدون تنش شوری منجر به کاهش وزن تر و خشک پیاز شد. بااین‌حال، استفاده از نانوذرات به‌خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطوح مختلف شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش شاخص‌های مورد نظر شد. در بین تیمارهای آزمایشی، شاهد بیشترین وزن تر (۱۳/۸ گرم) و خشک (۲/۹۱۲ گرم) پیاز را نشان داد. سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین مقدار وزن تر (۸/۹۷۷ گرم) و خشک (۱/۹۵۷ گرم) ریشه را ثبت کرد (جدول ۳).

نتایج پژوهش وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018) روی تره ایرانی نیز نشان داد که تنش شوری موجب کاهش زیست‌توده گیاه تره ایرانی شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. کاهش وزن‌تر اندام در هنگام تنش شوری به‌علت

افزایش غلظت نمک‌های محلول محیط رشد ریشه می‌باشد که سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط و در نتیجه، کاهش جذب آب شده که در نهایت، منجر به کاهش سطح سطح برگ، سرعت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای می‌شود (Raza *et al*., 2022). از دیگر دلایل کاهش رشدونمو گیاه تحت تنش شوری، افزایش مصرف انرژی در گیاه به‌منظور خروج یون‌های سدیم است (Arvin, 2015). نتایج نشان داد که کاربرد نانوذرات مس، اثر منفی تنش شوری را بهبود بخشید و سبب افزایش وزن تر و خشک بوته و پیاز (*Allium cepa*) شد. نومان و همکاران (Noman *et al*., 2021) روی گیاه ذرت و وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al*., 2018) روی گیاه تره ایرانی گزارش کردند که کاربرد نانوذرات مس باعث افزایش زیست‌توده گیاهان (وزن تر شاخساره) تحت شرایط تنش شوری شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. عوامل متعددی مانند کاهش فتوسنتز، تخریب غشاء سلولی، کاهش آب در دسترس گیاهان و تجمع Na^+ در برگ‌ها از عوامل اصلی کاهش وزن در شرایط شوری است، که این افزایش رشد ناشی از کاربرد نانوذرات مس می‌تواند به‌دلیل تنظیم مثبت تنش اکسیداتیو و تنش یونی ناشی از شوری باشد (Choudhary *et al*., 2017). بنابراین، نانوذرات مس با افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های سلولی (آنزیمی و غیرآنزیمی) باعث غربال گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نتیجه، تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (Noman *et al*., 2021).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر ریشه و نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ساده نشان داد که وزن تر ریشه با افزایش سطح تنش شوری کاهش پیدا کرد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار باعث کاهش ۶۳/۹۷ درصدی در وزن تر ریشه در مقایسه با شاهد شد (جدول ۲). محلول‌پاشی نانوذرات مس موجب افزایش وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، عملکرد بهتری (۱۰/۶ درصد افزایش در مقایسه شاهد) به همراه داشت (جدول ۵). همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک ریشه گیاه تره ایرانی معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که وزن خشک ریشه گیاه تره ایرانی با افزایش سطح تنش شوری کاهش پیدا کرد، به‌طوری‌که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری کلرید سدیم، کاهش ۶۲/۸۸ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطوح تنش شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) موجب افزایش وزن خشک ریشه شد، امّا در سطح شاهد (بدون تنش شوری) کاهش شاخص مذکور را نشان داد. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات مس نیز در سطوح مختلف، تأثیر به نسبت بهتری روی افزایش وزن خشک ریشه نشان داد، هر چند در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نشان نداد. در مجموع، بیشترین وزن خشک ریشه در شاهد (۸/۴۶ گرم) و کمترین مقدار آن در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و عدم محلول‌پاشی نانوذرات مس (۳/۱۴ گرم) به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش شوری باعث کاهش نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۲۴/۴ درصدی در شاخص مذکور در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه گیاه تره ایرانی تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، طول ریشه افزایش یافت و در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۱۱/۹۶ درصدی در مقایسه با شاهد شد. محلول‌پاشی نانوذرات مس در سطح بدون تنش باعث افزایش طول ریشه شد، امّا در سطوح تنش شوری کلرید سدیم (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث کاهش طول ریشه در گیاه تره‌فرنگی شد. در مجموع، تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات، بیشترین طول ریشه (۲۲/۴۶ سانتی‌متر) را نشان داد. همچنین غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات در سطوح تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیز کمترین (به‌ترتیب ۱۹/۶ و ۱۹/۸ سانتی‌متر) مقدار شاخص مذکور را ثبت کردند (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر حجم ریشه تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کلرید سدیم به‌شدت از حجم ریشه کاسته شد، به‌طوری‌که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، کاهش ۶۹/۸۹ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد (جدول ۴). با این‌وجود، کاربرد نانوذرات مس موجب افزایش حجم ریشه نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد بهتری (۱۰ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) نشان داد (جدول ۵).

افزایش رشد ریشه گیاهان مختلف از جمله تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* var. porrum Gay) (Vojodi Mehrabani *et al*., 2018) با کاربرد نانوذرات مس گزارش شده است. ریشه، وظیفه جذب آب و مواد غذایی را برعهده دارد و تنش شوری از ناحیه ریشه به گیاه وارد می‌شود، بنابراین ریشه اولین اندامی است که با تنش شوری مواجه می‌شود و با توجه به تنظیم اسمزی و شیوه‌های اجتنابی که در جهت کاهش اثر شوری انجام می‌دهد. ریشه مقدار زیادی انرژی از اندام‌های هوایی دریافت می‌کند که صرف مقابله با تنش شوری می‌نماید، این عمل باعث کاهش کارآیی ریشه در تأمین عناصر غذایی

و آب برای سایر اندام‌ها می‌شود. مجموع این عوامل، کاهش رشد ریشه را به دنبال خواهد داشت (Raza *et al.*, 2022). کاهش طول ریشه و اندام هوایی نیز در شرایط تنش اسمزی، می‌تواند به‌علت کاهش جذب آب، ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و همچنین اختلال در فتوسنتز و رشد ریشه و اندام هوایی باشد. در شرایط تنش، مقدار پروتئین‌های دیواره سلولی که در طویل شدن و رشد سلول نقش دارند، کاهش یافته و در نتیجه، موجب کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی می‌گردد (Zhang *et al.*, 2014). همچنین در دراز مدت، به‌دلیل سمیت یونی ناشی از تجمع بیش از حد نمک‌ها در سیتوپلاسم، واکوئل‌ها قادر به حذف نمک اضافی نخواهند. سمیت سدیمی نیز باعث جذب بیشتر یون شده و pH ریزوسفر را به‌دلیل کربنات‌ها و بی‌کربنات‌هایی که مانع جذب مواد مغذی می‌شوند، افزایش می‌دهد. تحت چنین شرایط شوری، رشد ریشه به‌شدت کاهش می‌یابد و رشد اندام هوایی متوقف می‌شود (Raza *et al.*, 2022).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر درصد ماده خشک تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که درصد ماده خشک گیاهی با اعمال تنش شوری افزایش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش ۳۶/۴ درصد در شاخص مذکور شد (جدول ۴).

افزایش تولید ماده خشک تابع وجود آب قابل وصول در محیط ریشه و در نتیجه، انتقال عناصر غذایی لازم از ریشه به برگ‌ها و در نهایت، بهبود فتوسنتز در شرایط بهینه است. یکی از اثرات تنش شوری، محدودیت میزان توسعه برگ و کاهش میزان رشد برگ‌ها به‌دلیل کم شدن میزان تقسیم سلولی و یا کاهش طویل شدن سلول‌هاست که می‌تواند تجمع ماده خشک و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2021; Kapoor *et al.*, 2020). مطالعات افزایش (Fattahi *et al.*, 2021) و کاهش (Nabati *et al.*, 2012) درصد ماده خشک گیاهی در گونه‌های مختلف گیاهی را در تنش شوری گزارش کردند. افزایش درصد ماده خشک در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل انباشت یون‌های سمی در برگ باشد که منجر به انتقال آب به طرف برگ‌ها جهت حفظ تعادل اسمزی و عدم آسیب به سلول می‌شود (Abdel-Salam *et al.*, 2018).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که اثرات تنش شوری و نانوذرات مس و همچنین اثر متقابل آن‌ها روی شاخص مقاومت به تنش معنی‌دار شده است. بررسی میانگین داده‌ها نشان داد که اعمال تنش شوری باعث کاهش قابل توجهی در شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تره ایرانی شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کاهش ۵۹ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. از طرفی دیگر، در سطح غیر تنش، کاربرد نانوذرات مس نیز باعث کاهش شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تحت تیمار شد، امّا در سطوح تنش شوری مختلف استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش در شاخص مورد نظر شد، به‌طوری‌که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطح تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش ۱۲ درصدی در شاخص مقاومت به تنش نسبت به تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به نانوذره شد (جدول ۳).

تنش شوری از طریق اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی (تبادلات گازی و رفتار روزنه‌ای) و بیوشیمیایی گیاه و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی در نتیجه تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن، مقاومت گیاهان را کاهش می‌دهد (Guzman & Marques, 2023; Acosta-Motos *et al.*, 2017). بااین‌حال، تأثیر نانوذرات اکسید مس در افزایش مقاومت به تنش در گیاهان را می‌توان مرتبط با نقش این عنصر در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز و همچنین غربال گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها از جمله سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز دانست (Tabatabaee *et al.*, 2021; Thounaojam *et al.*, 2012).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر محتوای نسبی آب برگ تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، از محتوای نسبی آب کاسته شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۱۰/۷۳ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون تنش شوری، کاهش محتوای نسبی آب را نشان داد، امّا در سطوح تنش شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شد و در غلظت‌های استفاده شده، غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر بهتری در افزایش شاخص مربوطه به همراه داشت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ در شاهد (۹۰/۹۱ درصد) و کمترین مقدار آن نیز در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات (۸۱/۱۵ درصد) به‌دست آمد (جدول ۳). بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید تأثیر معنی‌داری داشت، امّا اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کلرید سدیم، میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید نیز افزایش یافت، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید (به‌ترتیب ۵۴/۷۳ و ۲۶۴ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) به‌دست آمد (جدول ۴). بااین‌حال، محلول‌پاشی نانوذرات مس سبب کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید شد، هر چند با افزایش غلظت تأثیر کاهشی نشان داد، به‌طوری‌که در غلظت ۱۵۰

میلی‌گرم در لیتر، کمترین درصد نشت الکترولیت و مقدار مالون دی‌آلدئید (به‌ترتیب ۱۶/۸ و ۲۹/۵ درصد کمتر از شاهد) را نشان داد (جدول ۵).

محتوای نسبی آب از چند طریق بر فیزیولوژی سلول از جمله تغییر در موقعیت‌های اندامک بین سلولی، کانال‌های انتقال مواد و بیوشیمی آنزیم‌ها مثل انقباض دیواره سلولی تأثیر می‌گذارد. واضح است که این تغییرات بر متابولیسم سلولی از جمله فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Lawlor & Cornic, 2002). غلظت بالای سدیم در سلول‌های گیاهی با ایجاد اختلال در تعادل اسمزی و خشکی فیزیولوژیکی، مانع از جذب آب در گیاه می‌گردد و منفی‌تر شدن پتانسیل آب برگ را در پی دارد (Zhang *et al.*, 2014)، در نتیجه به‌واسطه اختلال در فرآیند انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری، مقادیر بالای از گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود که باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء لیپیدی و به دنبال آن تخریب تمامیت غشاء سلولی می‌شود (Zhang *et al.*, 2014). در نتیجه این فرآیندها، غلظت مالون دی‌آلدئید و نشت یونی افزایش یافته و محتوای نسبی آب کاهش می‌یابد. نتایج پژوهش اکبری و همکاران (Akbari *et al.*, 2011) روی تره ایرانی نشان داد که تنش شوری موجب افزایش محتوای نسبی آب تره ایرانی شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت. وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2017) در بررسی تأثیر تنش شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) روی گیاه تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* L.) گزارش کردند با افزایش سطح تنش شوری تجمع یون سدیم، نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌للدئید در گیاهان افزایش یافت و در غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقادیر شاخص‌های مذکور را نشان داد. مطالعات روی ذرت (Noman *et al.*, 2021) و رزماری (Hejazi *et al.*, 2012) نشان داد که کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌للدئید و افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. تحقیقات نشان داده است که عنصر مس به‌دلیل شرکت در ساختار برخی آنزیم‌ها از جمله پلی فنل اکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز Zn/Cu و آسکوربات اکسیداز باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شده و باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود، در نتیجه بهبود محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید را به همراه دارد (Raza *et al.*, 2022; Siddiqi *et al.*, 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل کل و شاخص ثبات کلروفیل تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری کلرید سدیم از مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئد و کلروفیل کل کاسته شد، به‌طوری‌که تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب باعث کاهش ۲۹/۷۸، ۴۷/۸۷، ۳۵/۴۶ و ۳۴/۹۰ درصدی در مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل شد (جدول ۴). کاربرد نانوذرات مس موجب افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب سبب ۳۸/۱۲، ۲۸/۳۳، ۴۰/۹۰ و ۳۵/۶۸ درصد افزایش در مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل شد (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شاخص ثبات کلروفیل با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار باعث کاهش ۵۰ درصدی در شاخص مذکور شد (جدول ۴). بااین‌حال، کاربرد نانوذرات مس، افزایش شاخص ثبات کلروفیل را به‌دنبال داشت و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۳۴/۶ درصد در شاخص مربوطه شد (جدول ۵).

کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های فیزیولوژیکی می‌باشد که نشان‌دهنده شرایط مطلوب گیاه بوده که به آب قابل دسترس گیاه و سطح تغذیه بستگی دارد (Farouk & Al-Amri, 2019). تحقیقات روی گیاهان تره ایرانی، کاهش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل را تحت شرایط تنش شوری گزارش کردند (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018; Akbari *et al.*, 2011)، که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش، می‌تواند به‌دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، اکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Farouk & Al-Amir, 2019). تنش شوری با افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیکی مانند کلروفیلاز، جایگزینی یون منیزیم موجود در ساختار کلروفیل با یون سدیم و کلر، کاهش آمینولولنیک اسید سنتتاز و روبیسکو، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Radi *et al.*, 2013). نتایج پژوهش هرنلندز-هرنلندز و همکاران (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2018) روی گوجه فرنگی نشان داد که استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. با این‌وجود، پرز-لابرادا و همکاران (Pérez-Labrada *et al.*, 2019) روی گیاه گوجه فرنگی نشان داد که کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش کلروفیل a، b، کلروفیل کل تحت تنش شوری شد. مطالعات نشان داده است که عنصر مس به‌دلیل نقش مؤثری که در تولید تعداد زیادی از آنزیم‌ها دارد، عملکردهای متابولیکی متفاوتی در گیاه می‌تواند داشته باشد، هر چند غلظت بالای این عنصر اثر منفی بر رشد گیاه دارد (Siddiqi *et al.*, 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر تنش شوری کلرید سدیم افزایش شد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین (۴۰/۵۰ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) میزان فعالیت آنزیم مربوطه را نشان داد (جدول ۴). محلول‌پاشی نانوذرات مس نیز موجب افزیش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین (۱۶/۶ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) فعالیت آنزیم ثبت شد (جدول ۵).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، افزایش ۳۴ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطوح مختلف شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، به‌طوری‌که در سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۹۳/۳۷ درصد در فعالیت آنزیم مذکور در مقایسه با شاهد (بدون شوری و نانوذرات) شد (جدول ۳).

به‌طورکلی در شرایط تنش شوری، رونویسی از برخی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون ردوکتاز یا آسکوربات پراکسیداز برای بهبود وضعیت گیاه در چنین شرایطی، افزایش پیدا می‌کند که نقش مهمی در کاهش گونه‌های اکسیژن فعال و آسیب‌های ناشی از آن را ایفا می‌کند (Raza *et al*., 2022). با توجه به سمیت پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی از جمله کلروپلاست و حضور کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها، فعالیت آنزیم پراکسید و آسکوربات پراکسیداز می‌تواند نقش مهمی در غربال پراکسید هیدروژن داشته باشد. در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری افزایش یافت. تنش شوری باعث تجمع گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در سلول‌های گیاهی می‌شود. متابولیسم H_2O_2 وابسته به عملکرد آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سلول‌های گیاهی است (Siddiqi *et al*., 2020). محلول‌پاشی نانوذرات مس باعث افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد. در تحقیقات گذشته نیز افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان ذرت (Noman *et al*., 2021) و گوجه‌فرنگی (Pérez-Labrada *et al*., 2019) تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. کاربرد نانوذرات مس موجب تولید سریع‌تر و کارآمدتر گونه‌های اکسیژن فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود، زیرا توسط فضاهای متخلخل جذب شده و از دیواره سلولی عبور می‌کنند. پس از ورود به داخل سلول، نانوذرات (با بار منفی) به قسمت بیرونی غشاء سلولی (بارهای مثبت غشاء) طی برهم‌کنش الکترواستاتیکی متصل می‌شوند. در نهایت، نانوذرات توسط پتانسیل غشای پلاسمایی در سیتوسل، پلاستیدها، واکوئل یا هسته پخش می‌شود (Da Costa & Sharma, 2016). بنابراین، ورود نانوذرات باعث تنش اکسیداتیو می‌شود که در نتیجه، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی فعال می‌شوند و تحمل گیاه را به تنش شوری افزایش می‌دهند (Da Costa & Sharma, 2016). از طرفی دیگر، پراکسید هیدروژن، گونه‌ای فعال اکسیژن تولید شده در پاسخ به شرایط تنش است که از کاتالیز رادیکال آزاد سوپراکسید به‌وسیله فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید شده و در نهایت، توسط برخی آنزیم‌ها از جمله کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود (Noman *et al*., 2021). در کل، پاسخ گیاهان به شوری شامل تعدیل هموستاز یونی، القای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و بیوسنتز فیتوهورمون‌های متعدد و محافظت‌کننده‌های اسمزی در برابر تنش اسمزی با کاهش سمیت یونی و افزایش مهار گونه‌های اکسیژن فعال همراه است. از آنجایی‌که اکثر گیاهان به شوری حساس هستند، بهبود تحمل به نمک از طریق تعدیل‌کننده‌های تنش در حفظ بهره‌وری کشاورزی جهانی بسیار مهم است (Raza *et al*., 2022).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری با افزایش نشت الکترولیت و کاهش محتوای نسبی آب برگ باعث کاهش رشد گیاه تره‌فرنگی شد. هر چند درصد ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را اندکی افزایش داد. اگرچه اثرات نانوذرات مس در گیاهان شاهد (سطح بدون تنش) مثبت نبود، امّا تحت شرایط تنش و به‌خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود روابط آبی گیاه، مقاومت گیاهان به تنش شوری را افزایش و تأثیر منفی تنش روی شاخص‌های مورفو- فیزیولوژی (قطر پیاز، وزن تر و خشک اندام هوایی و پیاز) گیاه تره ایرانی را کاهش داد. بنابراین، کاربرد نانوذرات مس زمانی‌که گیاه در معرض انواع تنش‌های مختلف قرار می‌گیرد، شایسته توجه بیشتری است.

References

1- Abdelraheem, A., Esmaeili, N., O'Connell, M., & Zhang, J. (2019). Progress and perspective on drought and salt stress tolerance in cotton. *Industrial Crops and Products*, *130*, 118-129. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.070

2- Abdel-Salam, E., Alatar, A., & El-Sheikh, M. A. (2018). Inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*, 1772–1780. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.015

3- Acosta-Motos, J.R., Maria Fernanda, O., Agustin, B., Pedro, D.V., Maria, J.B., & Jose Antonio, H. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy*, *7*(1), 18. https://doi.org/10.3390/agronomy7010018

4- Akbari, S., Dashti, F., & Gholami, M. (2011). *Effect of salinity stress on performance and some biochemical and physiological characteristics of Iranian leek*. 7th Congress of Iranian Horticultural Science, Isfahan, Iran. (In Persian with English abstract). https://civilica.com/doc/174155

5- Arvin, P. (2015). Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Agricultural Research*, *7*(2), 90-104.

6- Betran, F.J., Beck, D., Banziger, M., & Edmeades, G.O. (2003). Secondary traits in parental inbreeds and hybrids under stress and nonstress environments in tropical maize. *Field Crops Research*, *83*, 51-65. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00061-3

7- Choudhary, R.C., Kumaraswamy, R.V., Kumari, S., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R., & Saharan, V. (2017). Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports*, *7*(1), 9754. Https://doi.org/10.1038/s41598-017-08571-0

8- Croser, C., Renault, S., Franklin, J., & Zwiazek, J. (2001). The effect of salinity on the emergence and seedling growth of *Picea morian*, *Piccea glausa* and *Pinus banksiana*. *Environmental Pollution*, *115*, 6-16. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00097-5

9- Da Costa, M.V.J., & Sharma, P.K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, *54*, 110-119. https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5

10- Della Maggiora, L., Francini, A., & Giovannelli, A. (2023). Assessment of the salinity tolerance, response mechanisms and nutritional imbalance to heterogeneous salt supply in *Populus alba* L. clone 'Marte' using a split-root system. *Plant Growth Regul*, *101*, 251–265. https://doi.org/10.1007/s10725-023-01017-w

11- Farouk, S., & Al-Amri, S.M. (2019). Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. *Industrial Crops and Products*, *142*, 111823. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111823

12- Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., & Ravash, R. (2021). Investigation of phosphorus use efficiency and drought and salinity stress resistance index in pistachio rootstocks coexisted with mycorrhiza arbuscular. *Plant Productions*, *44*(4), 587-600. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22055/ppd.2020.33219.1894

13- Fischer, R.A., & Maurer, R. (1998). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, *29*, 897-912. https://doi.org/10.1071/AR9780897

14- Gholamzadeh Alam, A., Mousavi-Fard, S., & Rezaei Nejad, A. (2022). Morphological and physiological characteristics for evaluation of salicylic acid effects on *Celosia argentea* L. under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, *12*(1), 4027-4037. https://doi.org/10.30495/ijpp.2022.689078

15- Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., & Soltanloo, H. (2021). Physiological response and secondary metabolites of three lavender genotypes under water deficit. *Scientific Reports*, *11*(1), 19164. https://doi.org/10.1038/s41598-021-98750-x

16- Guzman, M.R., & Marques, I. (2023). Effects of salinity on edible marigold flowers (*Tagetes patula* L.). *Biology Life Science Forum*, *27*, 38. https://doi.org/10.3390/IECAG2023-15986

17- Hejazi, M. M., Shariatmadari, H., Khoshgoftarmanesh, A. H., & Dehghani, F. (2012). Copper effects on growth, lipid peroxidation, and total phenolic content of rosemary leaves under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *14*, 205-212.

18- Hernandez-Hernandez, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018). Chitosan-PVA and copper nanoparticles improve growth and overexpress the SOD and JA genes in tomato plants under salt stress. *Agronomy*, *8*(9), 175. https://doi.org/10.3390/agronomy8090175

19- Jampeetonga, A., & Brix, H. (2009). Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany*, *3*, 181-186. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.05.003

20- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: how to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, *10*, 5692. https://doi.org/10.3390/app10165692

21- Lawlor, D.W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, *25*, 275–294. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x
22- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids–pigments of photosynthetic biomembrances za Colowick SP, *Kaplan NO Methods in Enzymology*, Vol. 148.
23- Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, *78*(3), 389-398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134
24- MacAdam, J.W., Nelson, C.J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, *99*(3), 872-878. https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872
25- Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrjerdi, M. (2012). Evaluation of quantitative and qualitative characteristic of forage kochia in different growth under salinity stress. *Journal of Crop Production*, *5*(2), 111-128. (In Persian with English abstract). http://dorl.net/dor/20.1001.1.2008739.1391.5.2.7.8
26- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867-880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232
27- Noman, M., Ahmed, T., Shahid, M., Niazi, M.B.K., Qasim, M., Kouadri, F., & Ali, S. (2021). Biogenic copper nanoparticles produced by using the *Klebsiella pneumoniae* strain NST2 curtailed salt stress effects in maize by modulating the cellular oxidative repair mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *217*, 112264. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112264
28- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Tran, L.S.P. (2014). ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytologist*, *202*(1), 35-49. https://doi.org/10.1111/nph.12613
29- Panahandeh, J. (2015). Meiosis in persian leek *Allium ampeloprasum* ssp. persicum. *In VII International Symposium on Edible Alliaceae*, *1143*, 23-26. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1143.4
30- Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E.R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, *8*(6), 151. https://doi.org/10.3390/plants8060151
31- Radi, A.F. (2013). Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences*, *3*, 72-88.
32- Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A. Z., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., & Varshney, R.K. (2023). Smart reprograming of plants against salinity stress using modern biotechnological tools. *Critical Reviews in Biotechnology*, *43*(7), 1035-1062. https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2093695
33- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Holaday, A.S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, *30*(1), 105-111. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
34- Roozbahani, F., Mousavi-Fard, S., & Nejad, A.R. (2020). Effect of proline on some physiological and biochemical characteristics of two cultivars of Impatiens walleriana under salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *51*(3), 537-550. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.279774.1632
35- Safari, M., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., Sorkheh, K., & Sofo, A. (2022). Exogenous salicylic acid positively affects morpho-physiological and molecular responses of *Impatiens walleriana* plants grown under drought stress. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *19*(2), 969–984. https://doi.org/10.1007/s13762-020-03092-2
36- Siddiqi, K.S., & Husen, A. (2020). Current status of plant metabolite-based fabrication of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: A review. *Biomaterials Research*, *24*(1), 1-15. https://doi.org/10.1186/s40824-020-00188-1
37- Starman, T., & Lombardini, L. (2006). Growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence of four ornamental herbaceous perennials during water deficit conditions. *Journal American Horticultural Science*, *131*(4), 475.
38- Tabatabaee S., Iranbakhsh, A., Shamili, M., & Oraghi Ardebili Z. (2021). Copper nanoparticles mediated physiological changes and transcriptional variations in microRNA159 (miR159) and mevalonate kinase (MVK) in pepper; potential benefits and phytotoxicity assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 106151. https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106151
39- Thounaojam, T.C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G.D., Sahoo, L., & Sanjib, P. (2012). Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, *53*, 33-39. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.01.006
40- Vinaya Rai, R.S., & Parthiban, K.T. (1995). Studies on the drought tolerance of *Eucalyptus* at seedling stage. *Journal Tropical For Science*, *8*(2), 155–160. https://www.jstor.org/stable/43582472
41- Vojodi Mehrabani, L., Valizadeh Kamran, R., Khurizadeh, S., & Seiied Nezami, S. (2018). Response of coriander to salinity stress. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, *8*(2), 89-98. https://doi.org/10.22034/JPPB.2018.9804

42- Wang, F., Zeng, B., Sun, Z., & Zhu, C. (2009). Relationship between proline and Hg^{2+}- induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *56*, 723-731. https://doi.org/10.1007/s00244-008-9226-2

43- Zhang, H.Z. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, *57*, 269-279. https://doi.org/10.1111/jpi.12167